

④ 日本国特許庁(JP)

④ 特許出願公開

④ 公開特許公報(A) 平2-92296

④ Int. Cl.³

識別記号

庁内整理番号

④ 公開 平成2年(1990)4月3日

C 12 P 19/14
 C 12 N 15/56
 A(C 12 P 19/14
 C 12 R 1:125)
 (C 12 N 15/56
 C 12 R 1:07)

8214-4B

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全5頁)

④ 発明の名称 高純度マルトース及びその還元物の製造方法

④ 特 願 昭63-242387

④ 出 願 昭63(1988)9月29日

④ 発 明 者 新 見 区 弘 茨城県牛久市牛久町701-28
 ④ 発 明 者 針 生 ゆかり 静岡県富士市本町10-18 富士屋マンション3階A号室
 ④ 発 明 者 形 浦 宏一 静岡県富士市中野490-17
 ④ 発 明 者 石 井 良文 静岡県富士市大沢3369-5
 ④ 発 明 者 加 藤 和 昭 埼玉県北葛飾郡吉川町中曽根477
 ④ 出 願 人 東和化成工業株式会社 東京都千代田区大手町2丁目1番2号
 ④ 代 理 人 弁理士 太田 恵一

明 細 書

1. 発明の名称

高純度マルトース及びその還元物の製造方法

2. 特許請求の範囲

(1) 澱粉を液化した後、 α -アミラーゼ、イソアミラーゼ、プルランナーゼからなる群の中から選ばれる2種以上の酵素を使用して固形分中のマルトース純度を70重量%以上に調製したものに、バチルス・ステアロサーモフィルス(*Bacillus stearotherophilus*)の遺伝子のマルトゲンニック- α -アミラーゼがコードされた部分を組み込んだプラスミドをバチルス・サブティリス(*Bacillus subtilis*)に組込んで生産されたマルトゲンニック- α -アミラーゼを添加して次式

$$\frac{\left(\begin{array}{c} \text{三糖以上のオリゴ糖の} \\ \text{固形分重量} \end{array} \right)}{\left(\begin{array}{c} \text{二糖の} \\ \text{固形分重量} \end{array} \right) + \left(\begin{array}{c} \text{三糖以上の} \\ \text{オリゴ糖の} \\ \text{固形分重量} \end{array} \right)} \times 100 \leq 8$$

の数値を与えるまで糖化するものを特徴とする

高純度マルトースの製造方法。

(2) ①澱粉を液化した後、 α -アミラーゼ、イソアミラーゼ、プルランナーゼからなる群の中から選ばれる2種以上の酵素を使用して固形分中のマルトース純度を70重量%以上に調製したものに、バチルス・ステアロサーモフィルス(*Bacillus stearotherophilus*)の遺伝子のマルトゲンニック- α -アミラーゼがコードされた部分を組み込んだプラスミドをバチルス・サブティリス(*Bacillus subtilis*)に組込んで生産されたマルトゲンニック- α -アミラーゼを添加して次式

$$\frac{\left(\begin{array}{c} \text{三糖以上のオリゴ糖の} \\ \text{固形分重量} \end{array} \right)}{\left(\begin{array}{c} \text{二糖の} \\ \text{固形分重量} \end{array} \right) + \left(\begin{array}{c} \text{三糖以上の} \\ \text{オリゴ糖の} \\ \text{固形分重量} \end{array} \right)} \times 100 \leq 8$$

の数値を与えるまで糖化する第1工程、

②得られた糖化物を還元する第2工程、

上記2工程を逐次的に実施することを特徴とする

高純度マルトースの製造方法。

特開平2-92296(2)

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は高純度マルトース及びその還元物の製造方法に関する。

(従来の技術)

マルトース、即ち4-〔 α -D-グルコピラノシル〕-D-グルコースは当量麦芽水飴の主成分として知られ、良質の風味を有するために広く食品に使用されてきた。

一方、その還元物であるマルチトール、即ち4-〔 α -D-グルコピラノシル〕-D-グルキトールも、微生物により発酵されにくいことや、砂糖に近い甘味質を有することなどの利点があることから、食品、化粧品、薬品などの分野で広範囲の用途に使用されている。

従来、高純度のマルトース又はマルチトールを得ることは、他の種類の高純度品を得ることに比較して困難であったが、特殊な精製方法を採用したり、他の種類の純度を高める際に多く利用されているクロマト分離法をマルトース又はマルチ

トールを得るためにD.Eを2以下、更に好ましくは、0.5～1.0にすることが要求される。

このD.E値及びその後の工程中での数値を満たすためには、原料濃度を所定の高い地下濃度(馬鈴薯濃縮等)に限定し、更に液化濃度を20%以下と、通常のハイマルトースを製造する工程よりも低くする必要がある。

(発明が解決しようとする課題)

その結果、この方法は大量に生産・販売されているハイマルトースシロップやグルコースシロップの製造工程中の精化槽と比較して、非常に大きなものを必要とする。

また、大量の水を蒸留する必要があるため、蒸留コストの増大を招くなどの欠点もあった。

④の方法は経済的に有利な地上濃縮も使用し得る方法であり、マルトースの純度を高める役を担っている工程は、マルトースとDP(糖の重合度)3以上、即ち、三糖以上のオリゴ糖とを分離する方法である。しかし、この方法は、特にマルトースとマルトリオースの分子重量比が小さく、その後の分離に必要な性質の差異も小さいために、

ールの製造工程に適用することにより、その困難さを軽減する試みがなされてきた。

高純度のマルトース又はマルチトールを得ようとする試みは多数報告されているが、それらのなかでも代表的なものは以下の4種に大別される。

①第1の方法は、例えば、特開昭57-134498号公報に開示されているような、 α -アミラーゼで澱粉を低DE(デキストロース当量)に液化した澱粉液化液に β -アミラーゼ及びイソアミラーゼを作用させて、マルトース高含有液を得、更に必要に応じてこれを水素添加して高純度マルチトールを得る方法である。

②第2の方法は、特開昭57-269000号公報、同58-23799号公報、同60-87000号公報、同62-10210号公報等に開示されているような、グルコース含有量が少なく、マルトース純度75～85%程度(本明細書中、%とは固形分あたりの重量%を示す。以下単に純度ということがある。)のマルトースを主成分とする澱粉液の成分を、アルカリ金属陽イオン交換樹脂でクロマト分離する

トールを得るためにはD.Eを2以下、更に好ましくは、0.5～1.0にすることが要求される。

このD.E値及びその後の工程中での数値を満たすためには、原料濃度を所定の高い地下濃度(馬鈴薯濃縮等)に限定し、更に液化濃度を20%以下と、通常のハイマルトースを製造する工程よりも低くする必要がある。

また、大量の水を蒸留する必要があるため、蒸留コストの増大を招くなどの欠点もあった。

④の方法は経済的に有利な地上濃縮も使用し得る方法であり、マルトースの純度を高める役を担っている工程は、マルトースとDP(糖の重合度)3以上、即ち、三糖以上のオリゴ糖とを分離する方法である。しかし、この方法は、特にマルトースとマルトリオースの分子重量比が小さく、その後の分離に必要な性質の差異も小さいために、

特開平2-92296 (3)

分離が極めて困難である。

このため、容量の大きな分離場を必要とし、分離に大量の抽出水を使用することやその結果この水の処理費用がかさむことなどの不利がある。

更に分離が困難なためにマルトース成分の中にグルコースなどの不純物が混入することが多く、マルトース純度が高くなりにくいという欠点もあった。

また、④の方法は、分離に供する取の原料がソルビトール、マルチトール、及びDP3以上の糖アルコールの混合物であり、これからマルチトールを主成分とする画分を取り出すために8層式のクロマト分離装置を、極めて複雑な操作で用いている。

それにも拘らず、各成分の分離状態は不良であり、結果的に、マルチトールを主成分とする画分にはマルトリートールが3%前後混入している。

この方法は、DP3以上の糖アルコールが混入してくるので、その後のマルチトールの結晶析出

が阻害され、結晶化工程に長時間を要することやマルチトールの収率が低い結果を用くなどの不都合を生じている。

更に、分離に使用しているカルシウム型イオン交換体は、ソルビトールに対して極めて強い吸着力を有するので、その抽出がマルチトールやDP3以上の糖アルコールに比較して著しく遅れ、その結果クロマト分離の際に原料糖液の約3倍の抽出液を必要とするという欠点もあった。

このことは、つまり、その後の精製工程で大量の水を蒸留、除去する必要があるということであり、工業的には極めて不利なことである。

次に、⑤の方法は汎用性の高い酵素を特異的な組み合わせで使用しているが、固相化段階で高価なグルコamilラーゼを比較的多量に使用する場合があることや、糖化終了時点でマルトースの純度が比較的低いこと、更に、還元液にクロマト分離工程が必要のためにこの工程を含まないプロセスに比べ、カラムから抽出する際に使う水によって工程中の固形分濃度が低くなってしまい、製

品化前にこの水を蒸発させる必要があることから、経済的に不利であるという欠点を有していた。

以上のことから、クロマト分離をせずに、経済的に有利で、糖化終了時点でマルトース純度が高く、且つ工程の簡便な、高純度マルトース及びその還元物の製造方法が切望されていた。

(課題を解決するための手段)

上記課題を解決するために、本発明者等は鋭意研究を重ねた結果、バチルス・ステアロサーモフィルス (*Bacillus stearothermophilus*) の遺伝子のマルトゲンニク- α -アミラーゼがコードされた部分を組込んだプラスミドを調製して、更に、このプラスミドをバチルス・ズブティリス (*Bacillus subtilis*) に組込んで生産されたマルトゲンニク- α -アミラーゼ (以下単にこのものをマルトゲンニク- α -アミラーゼと呼ぶことがある) を使用して特定の条件下で糖化することによって、経済的に有利で且つ簡便な高純度マルトースの製造方法を開発し、本発明を完成するに至った。

以下に本発明の内容を詳細に説明する。

本発明の目的は食品又は各種原材料として有用な高純度マルトース又は高純度マルチトールの有効な製造方法を提供することにある。

請求項1の本発明の工程は、1) 澱粉を糖化した後、 β -アミラーゼ、イソアミラーゼ、ブルランナーゼからなる群の中から選ばれる2種以上の酵素を使用し、固形分中のマルトース純度を70重量%以上に調整したのちに、マルトゲンニク- α -アミラーゼを添加して次式

$$\frac{\left(\begin{array}{c} \text{三糖以上のオリゴ糖の} \\ \text{固形分量} \end{array} \right)}{\left(\begin{array}{c} \text{二糖の} \\ \text{固形分量} \end{array} \right) + \left(\begin{array}{c} \text{三糖以上の} \\ \text{オリゴ糖の} \\ \text{固形分量} \end{array} \right)} \times 100 \leq 8$$

の値を与えるまで糖化する方法、つまり、原料品の酵素を組合わせて使用することによりマルトース純度を70%以上にした後、マルトゲンニク- α -アミラーゼで三糖以上のオリゴ糖を選択的に加水分解して更にマルトースの純度を高めることにより構成される。

特開平2-92298 (3)

分離が極めて困難である。

このため、容量の大きな分離場を必要とし、分離に大量の抽出水を使用することやその結果この水の処理費用がかさむことなどの不利がある。

更に分離が困難なためにマルトース成分の中にグルコースなどの不純物が混入することが多く、マルトース純度が高くなりにくいという欠点もあった。

また、④の方法は、分離に供する媒の組成がソルビトール、マルチトール、及びDP3以上の糖アルコールの混合物であり、これからマルチトールを主成分とする成分を取り出すために8段階のクロマト分離装置を、極めて複雑な操作で用いている。

それにも拘らず、各成分の分離状態は不良であり、結果的に、マルチトールを主成分とする成分にはマルトリイトールが3%前後混入している。

この方法は、DP3以上の糖アルコールが混入してくるので、その後のマルチトールの結晶析出

が阻害され、結晶化工程に長時間を要することやマルチトールの収率が低い結果を用くなどの不都合を生じている。

更に、分離に使用しているカルシウムイオン交換体は、ソルビトールに対して極めて強い吸着力を有するので、その抽出がマルチトールやDP3以上の糖アルコールと比較して著しく遅れ、その結果クロマト分離の際に原料液の約3倍の抽出液を必要とするという欠点もあった。

このことは、つまり、その後の精製工程で大量の水を蒸留、除去する必要があるということであり、工業的には極めて不利なことである。

次に、⑤の方法は収用性の高い酵素を特異的な組み合わせで使用しているが、原料糖化段階で高価なグルコアミラーゼを比較的多量に使用することや、糖化終了時点でのマルトースの純度が比較的低いこと、更に、還元後にクロマト分離工程が必要のためにこの工程を含まないプロセスに比べ、カラムから抽出する際に使う水によって工程中の固形分濃度が低くなってしまい、製

品化前にこの水を蒸発させる必要があることから、経済的に不利であるという欠点を有していた。

以上のことから、クロマト分離をせずに、経済的に有利で、糖化終了時点でマルトース純度が高く、且つ工程の簡便な、高純度マルトース及びその還元物の製造方法が切望されていた。

(問題を解決するための手段)

上記課題を解決するために、本発明者は細菌研究を重ねた結果、バチルス・スタアロサーモフィルス (*Bacillus stearothermophilus*) の遺伝子のマルトゲニク-α-アミラーゼがコードされた部分を組込んだプラスミドを複製して、更に、このプラスミドをバチルス・ズブティリス (*Bacillus subtilis*) に組込んで生産されたマルトゲニク-α-アミラーゼ (以下単にこのものをマルトゲニク-α-アミラーゼと言うことがある) を使用して特定の条件下で糖化することによって、経済的に有利で且つ簡便な高純度マルトースの製造方法を開発し、本発明を完成するに至った。

以下に本発明の内容を詳細に説明する。

本発明の目的は食品又は各種原材料として有用な高純度マルトース又は高純度マルチトールの有利な製造方法を提供することにある。

請求項1の本発明の工程は、1) 澱粉を糖化した後、β-アミラーゼ、イソアミラーゼ、プルランナーゼからなる群の中から選ばれた2種以上の酵素を使用して固形分中のマルトース純度を10重量%以上に調整したのちに、マルトゲニク-α-アミラーゼを追加して次式

$$\frac{\left(\frac{\text{三倍以上のオリゴ糖の}}{\text{固形分重量}} \right)}{\left(\frac{\text{二糖の}}{\text{固形分重量}} \right) + \left(\frac{\text{三倍以上のオリゴ糖の}}{\text{固形分重量}} \right)} \times 100 \leq 8$$

の数値を与えるまで糖化する方法、つまり、従来品の酵素を組合わせて使用することによりマルトース純度を10%以上にした後、マルトゲニク-α-アミラーゼで三倍以上のオリゴ糖を選択的に加水分解して更にマルトースの純度を高めることにより構成される。

特開平2-92296(4)

また、請求項2の本発明の工程は上記1)と同様の糖化工程を経た後に、得られた糖化物を還元することにより精製される。

本発明の原料は、地上糖粉、地下糖粉の別を問わず使用可能であり、発酵中のアミロースやアミロペクチンの組成も気にする必要はない。

本発明に使用可能な原料を具体的に例示すると、トウモロコシ澱粉、馬鈴薯澱粉、その他大豆、甘藷、タピオカなど由来の澱粉が挙げられる。

次に、これらの澱粉を液化するが、液化の方法や条件は特別に限定する必要はない。

然しながら、温度を高く保つことにより経済性を改善するためと、D.E.を比較的高くすることにより糖化物の老化を防止するために、例えば蓄熱温度20〜35℃で、例えばノボ社のターマミル(登録商標)などの耐熱液化酵素を使用して、ジェットクッカー等の装置による液化を行い、D.E.5〜15程度で液化酵素を失活させることが有利である。

更に、この糖化液を55〜80℃で糖化するが、

$$\frac{\left(\begin{array}{c} \text{三糖以上のオリゴ糖の} \\ \text{固形分重量} \end{array} \right)}{\left(\begin{array}{c} \text{二糖の} \\ \text{固形分重量} \end{array} \right) + \left(\begin{array}{c} \text{三糖以上の} \\ \text{オリゴ糖の} \\ \text{固形分重量} \end{array} \right)} \times 100 \leq 8$$

を満たすまで糖化を行うが、本発明を実施する上で使用できるマルトゲンニク-α-アミラーゼとしてはノボ社のマルトゲンゼがある。

その好適な糖化条件は、温度50〜60℃で、酵素添加量1〜20g/g 澱粉固形分(以下DSと略することがある。)、pH4.5〜8.5程度であり、これにより、マルトース純度80〜90%程度の高純度マルトースを得ることができる。

更に、前記のようにして得られた高純度マルトースを、それ自身は公知な方法で、固分式又は連続式の方法を採用し、ニッケル系又は白金系などの触媒の存在下で水素添加して高純度マルチオール液にすることができる。

水素添加条件は、マルトースの分解が生じない条件であればどのような条件でも良いが、通常は糖液の濃度を45〜60重量%にして、水素圧

その際にβ-アミラーゼ、イソアミラーゼ、ブルラナーゼからなる群の中から選ばれた2種以上の酵素を使用する。

この糖化工程開始後マルトゲンニク-α-アミラーゼを添加する前までの糖化の程度は、固形分中のマルトース純度が75重量%以上になるまで糖化することが、最終的に高純度の高純度マルトース又はその還元物を製造するために有利である。

このとき使用する糖化酵素は、β-アミラーゼとしては例えば長瀬産業株式会社のβ-アミラーゼ#1500、フィンシュガー社製のスペディム(SF-827H21登録商標)8841500などがあるが、それらの中でも大豆由来のβ-アミラーゼが本発明を実施するうえで有利な性質を備えている。

また、ブルラナーゼとしてはノボ社のプロモザイムや天野製薬株式会社のブルラナーゼアミノ(KL等)が汎用性が高いことや酵素の性質から有利である。

次に、マルトゲンニク-α-アミラーゼを添加して下記の式

20 kg/cd 以上で反応させることが好ましく、 $50 \sim 200 \text{ kg/cd}$ で、温度100〜150℃にて高純化することが更に好ましい。

この水素添加後の未還元糖は原料に還元させる必要はないが、1%以下、更には0.5%以下にすることが、このものを利用加工する上で有利な物性を付与することが可能になるのが好ましい。

得られた水素添加液は、必要に応じて触媒を除去した後、更に必要ならば脱色、脱イオンなどの精製操作を施して製品とすることができる。

本発明の方法により得られる高純度マルトース又は高純度マルチオールは、現在市販されているマルトース又はマルチオールを主成分とする製品群の中では比較的高いマルトース又はマルチオール純度を有するものであり、その成分組成は三糖以上のオリゴ糖又はオリゴ糖アルコール含有量が少ないので、クロマト分離法や品質分析などの公知の方法で更にマルトース又はマルチオールの純度を向上させたり、公知の方法で糖鎖断片・糖末化させることも容易に可能である。

特開平2-92296(5)

(実施例)

次に本発明を實施例により更に具体的に説明するが、本発明は以下の實施例により限定されるものではない。

實施例-1

(工程-1) トウモロコシ澱粉を濃度32%、pH5.3に調整し、耐熱液化酵素(玉蜀黍澱粉型、スピタラーゼE9)20u/gDSを添加してジェットクッカーにて105℃で液化した。液化酵素を失活させることによりDE12にて液化を停止した。

(工程-2) 次に、液化液をpH5.5に調整し、温度51℃で1.0g/kgDSのフィッシュゲル製のスベザイムBBA1500及び1.0g/kgDSのノボ社製アルターゼ、プロモザイム15200Lを添加して糖化反応を進め6時間目に液化酵素スピタラーゼPN4を20u/gDS添加して合計38時間糖化反応を行った。糖化開始後36時間目の糖組成を高速度液体クロマトグラフィーにて分析した結果は次の通りであった。

(一糖 14.7%)

(四糖以上のオリゴ糖 4.1%)

更に

マルトゲナーゼの添加量を5.0g/kgDSに変更した以外は實施例1の工程-3と同様に操作して以下の糖組成を有する高純度マルトース-①を得た。

(一糖 5.5%)

(二糖 88.9%)

(三糖 1.6%)

(四糖以上のオリゴ糖 4.0%)

實施例-5

實施例-1で得た高純度マルトース-①を常法に従って脱色、脱塩、濃縮して濃度50%の濃縮液とし、その20kgとラネニッケル酸200gを内容積259リットルのオートクレーブに仕込み、水素圧を120kg/cm²に保ち、120℃にて2時間保持して水素添加を行った。得られた反応液をろ過と分離し、柱状活性炭のカラムを通した後、高速液体クロマトグラフィーにて分析した結果は

(一糖 1.0%)

(二糖 72.8%)

(三糖 21.2%)

(四糖以上のオリゴ糖 5.0%)

(工程-3) 次に、マルトゲニク-α-ア

ミラーゼ(ノボ社製、マルトゲナーゼ)10u/gDSを添加して更に36時間反応を続け高純度マルトース-①を得た。反応終了後の糖組成を高速度液体クロマトグラフィーにて分析した結果は次の通りであった。

(一糖 9.8%)

(二糖 84.1%)

(三糖 1.9%)

(四糖以上のオリゴ糖 4.2%)

實施例-2

トウモロコシ澱粉の濃度を25%に液化DEを8に変更した以外は實施例1の工程-1及び2と同様に操作して以下の糖組成の液を得た。

(一糖 0.7%)

(二糖 80.9%)

以下の通りであった。

ソルビトール 16.3%

マルチトール 83.8%

三糖以上のオリゴ糖アルコール 5.9%

實施例-4

實施例-2で得た高純度マルトース-①を常法に従って脱色、脱塩、濃縮して濃度50%の濃縮液とし、實施例-3と同様に水素添加し、その後の精製操作の後、高速液体クロマトグラフィーにて分析した結果は以下の通りであった。

ソルビトール 5.7%

マルチトール 88.5%

三糖以上のオリゴ糖アルコール 5.0%

(発明の効果)

以上の記載から明らかなように、本発明により、汎用酵素及びマルトゲニク-α-アミラーゼを特定の条件下で使用し、各工程を実施することにより、容易な操作で高純度マルトース又はソルビトールを収率良く得ることができる。

JP02092296

Prodn. of high purity maltose and maltitol - using amylase, prod. by bacillus subtilis contg. plasmid from B. stearothermophilus, and liq. starch

Patent Assignee: TOWA KASEI KOGYO KK

Patent Family							
Patent Number	Kind	Date	Application Number	Kind	Date	Week	Type
JP 2092296	A	19900403	JP 88242387	A	19880929	199019	B
JP 2696534	B2	19980114	JP 88242387	A	19880929	199807	

Priority Applications (Number Kind Date): JP 88242387 A (19880929)

Patent Details					
Patent	Kind	Language	Page	Main IPC	Filing Notes
JP 2092296	A		5		
JP 2696534	B2		5	C12P-019/14	Previous Publ. patent JP 2092296

Abstract:

JP 2092296 A

Prodn. of high purity maltose comprises adding maltogenic' alpha-amylase (I) to starch, which has been liquefied and prepd. to be at least 70 wt.% in fineness of maltose in solid by using at least two of beta-amylase, isoamylase and pullulanase, to saccharify it to (B)/((A)+(B)) less than 8% where (A) = wt. of solid disaccharide; (B) = wt. of solid oligosaccharide composed of at least trisaccharide. (I) is prepd. by embedding plasmid, in which maltogenic alpha-amylase code of gens of Bacillus stearothermophilus has been embedded, in Bacillus subtilis.

High purity maltitol soln. is prepd. by reduction, pref. bis hydrogenating high purity maltose (I) with nickel or noble metallic catalyst.

USE/ADVANTAGE - High purity maltose or maltitol is produced efficiently by the simple operation. (5pp Dwg.No.0/0)

Derwent World Patents Index

© 2004 Derwent Information Ltd. All rights reserved.

Dialog® File Number 351 Accession Number 8257907